

2017 Octubre, 7(1): 1-1

ESTUDIO DE LA ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE PÉPTIDOS DERIVADOS DE ALFA HEMOLISINA DE *E. COLI* PARA LA CONSTRUCCIÓN DE UNA INMUNOTOXINA

Lucía Cané (a), Fanny Guzmán (b), Sabina Maté (a), and Vanesa Herlax (a)

(a) Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata (INIBIOLP), CCT- La Plata, CONICET. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de La Plata.

(b) Núcleo Biotecnológico de Curauma, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile.
lucane21@hotmail.com

Introducción

Alfa Hemolisina de *Escherichia coli* (HlyA) es una toxina formadora de poros que pertenece a la familia RTX (Repeat in Toxins). A partir de datos experimentales y predicciones estructurales, se sintetizaron cuatro péptidos derivados de HlyA: PEP 1: un dominio transmembrana descrito como hemolíticamente activo; PEP 2: también un dominio transmembrana, cuya secuencia corresponde a un dominio de unión a colesterol (CARC); PEP3: similar a PEP2 pero con el residuo Y³⁴⁷ sustituido por una A y PEP4: similar a PEP2 pero con una secuencia CRAC (“cholesterol recognition/interaction amino acid consensus domain”) agregada.

Objetivos

El objetivo de este trabajo fue estudiar la participación de CRAC y CARC en la estabilización de los monómeros de HlyA en membranas por su interacción con el colesterol, evaluar el papel de Y³⁴⁷ en la interacción con membranas y finalmente encontrar un péptido citotóxico para la construcción de una inmunotoxina.

Materiales y métodos

Los péptidos fueron sintetizados por el método de síntesis peptídica en fase sólida (Estrategia Fmoc) y purificados por HPLC (columna C-18). La masa molecular se determinó por espectrometría de masas y la estructura peptídica por dicroísmo circular. La actividad hemolítica de los péptidos se midió usando eritrocitos humanos y la citotoxicidad mediante el método de reducción de MTT en la línea celular tumoral mamaria MCF-7.

Resultados

Los resultados describen a PEP2 como hemolítico y citotóxico, lo que es prometedor y nos alienta a utilizarlo en el diseño de inmunotoxinas. PEP3 resultó no ser citotóxico, sugiriendo que el residuo Y³⁴⁷ es fundamental para la interacción de HlyA con membranas lipídicas. PEP4 resultó no ser hemolítico ni citotóxico, lo que implica que la secuencia CRAC agregada es desfavorable para la actividad del péptido.

Conclusiones

En conclusión, sintetizamos y estudiamos la estructura y actividad de cuatro péptidos derivados de HlyA de *Escherichia coli*. También, encontramos un péptido que es citotóxico y hemolíticamente activo, lo que conduce a nuestro grupo al diseño y la construcción de una inmunotoxina formada por PEP2 y un anticuerpo que reconoce especialmente a las células tumorales.